

**SINERGISME FRAKSI ETIL ASETAT RIMPANG LENGKUAS DENGAN
UMBI BAWANG DAYAK, KULIT MANGGIS, BIJI MAHONI, DAN
RIMPANG JAHE PADA SEL T47D**



**Disusun sebagai salah satu syarat menyelesaikan Program Studi Strata I pada Jurusan Farmasi
Fakultas Farmasi**

Oleh:

RIRIN ULPHA BRIGITA

K 100 150 142

**PROGRAM STUDI FARMASI
FAKULTAS FARMASI
UNIVERSITAS MUHAMMADIYAH SURAKARTA
2019**

HALAMAN PERSETUJUAN

**SINERGISME FRAKSI ETIL ASETAT RIMPANG LENGKUAS
DENGAN UMBI BAWANG DAYAK, KULIT MANGGIS, BIJI MAHONI,
DAN RIMPANG JAHE PADA SEL T47D**

PUBLIKASI ILMIAH

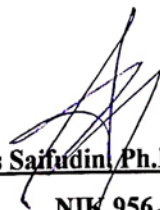
oleh:

RIRIN ULPHA BRIGITA

K 100 150 142

Telah diperiksa dan disetujui untuk diuji oleh:

Dosen Pembimbing


Azis Saifudin/Ph.D., Apt.
NIK.956

HALAMAN PENGESAHAN

**SINERGISME FRAKSI ETIL ASETAT RIMPANG LENGKUAS
DENGAN UMBI BAWANG DAYAK, KULIT MANGGIS, BIJI MAHONI,
DAN RIMPANG JAHE PADA SEL T47D**

OLEH

RIRIN ULPHA BRIGITA

K 100 150 142

**Telah dipertahankan di depan Dewan Penguji
Fakultas Farmasi
Universitas Muhammadiyah Surakarta
Pada hari Senin, 11 Maret 2019
dan dinyatakan telah memenuhi syarat**

Dewan Penguji:

- 1. Peni Indrayudha, Ph.D., Apt,
(Ketua Dewan Penguji)**
- 2. Dr. Muhtadi, M.Si.
(Anggota I Dewan Penguji)**
- 3. Azis Saifudin, Ph.D., Apt.
(Anggota II Dewan Penguji)**

(.....)
(.....)
(.....)

Dekan,



Azis Saifudin, Ph.D., Apt.

NIK. 956

PERNYATAAN

Dengan ini saya menyatakan bahwa dalam naskah publikasi ini tidak terdapat karya yang pernah diajukan untuk memperoleh gelar kesarjanaan di suatu perguruan tinggi dan sepanjang pengetahuan saya juga tidak terdapat karya atau pendapat yang pernah ditulis atau diterbitkan orang lain, kecuali secara tertulis diacu dalam naskah dan disebutkan dalam daftar pustaka.

Apabila kelak terbukti ada ketidakbenaran dalam pernyataan saya di atas, maka akan saya pertanggungjawabkan sepenuhnya.

Surakarta, 8 Maret 2019

Penulis



RIRIN ULPHA BRIGITA

K 100 150 142

SINERGISME FRAKSI ETIL ASETAT RIMPANG LENGKUAS DENGAN UMBI BAWANG DAYAK, KULIT MANGGIS, BIJI MAHONI, DAN RIMPANG JAHE PADA SEL T47D

Abstrak

Tanaman lengkuas (*Alpinia galanga* (L.) Willd.) merupakan salah satu bahan alam yang berpotensi untuk dikembangkan sebagai obat antikanker. Selain lengkuas, tanaman lain yang juga dilaporkan memiliki aktivitas antikanker adalah bawang dayak (*Eleutherine bulbosa* (Mill.) Urb.), manggis (*Garcinia mangostana* (L.)), mahoni (*Swietenia mahagoni* (L.) Jacq.), dan jahe (*Zingiber officinale* Roscoe.). Penelitian ini dilakukan untuk mengetahui sinergisme fraksi etil asetat empat tanaman tersebut dengan fraksi etil asetat rimpang lengkuas pada sel T47D. Ekstrak diperoleh dengan metode maserasi menggunakan pelarut metanol kemudian dilakukan fraksinasi menggunakan pelarut etil asetat dan akuades sehingga diperoleh fraksi etil asetat. Aktivitas sitotoksik diuji dengan metode MTT dan dibaca menggunakan ELISA reader pada panjang gelombang 550 nm. Hasil penelitian menunjukkan bahwa uji tunggal rimpang lengkuas dan uji kombinasi dengan empat tanaman memberikan aktivitas sitotoksik yang sama-sama moderat terhadap sel T47D, sehingga dapat disimpulkan bahwa kombinasi empat tanaman dengan rimpang lengkuas menunjukkan efek yang aditif. Hasil kombinasi rimpang lengkuas-kulit manggis memiliki aktivitas sitotoksik yang lebih kuat (IC_{50} 41,86 μ g/mL) dibandingkan dengan rimpang lengkuas tunggal (IC_{50} 65,38 μ g/mL).

Kata Kunci: *Alpinia galanga*, IC_{50} , sel T47D, sinergisme

Abstract

Galangal (*Alpinia galanga* (L.) Willd.) is one of the natural ingredients that has the potential to be developed as an anticancer drug. In addition to galangal, other plants that are also reported to have anticancer activities are dayak onions (*Eleutherine bulbosa* (Mill.) Urb.), mangosteen (*Garcinia mangostana* (L.)), mahogany (*Swietenia mahagoni* (L.) Jacq.), and ginger (*Zingiber officinale* Roscoe.). This study aimed to determine the synergism of the four plants ethyl acetate fraction with galangal rhizome ethyl acetate fraction in T47D cells. The extract was obtained by maceration method using methanol solvent then fractionation was carried out using ethyl acetate and distilled water solvents to obtain ethyl acetate fraction. Cytotoxic activity was tested by using MTT method and read using an ELISA reader at a wavelength of 550 nm. The results showed that a single galangal rhizome test and a combination test with four plants gave cytotoxic activity which was equally moderate to T47D cells, so it could be concluded that the combination of four plants with galangal rhizomes showed an additive effect. The result showed the combination of galangal-mangosteen rhizome rhizome had stronger cytotoxic activity (IC_{50} 41,860 μ g/mL) compared to single galangal rhizome (IC_{50} 65,383 μ g/mL).

Keywords: *Alpinia galanga*, IC_{50} , T47D cell, synergism

1. PENDAHULUAN

Kanker merupakan suatu penyakit yang ditandai dengan pertumbuhan sel yang tidak terkendali dan penyebaran sel-sel abnormal (*American Cancer Society*, 2015). Menurut data Kemenkes RI (2015), kanker payudara merupakan penyakit kanker dengan prevalensi tertinggi di Indonesia setelah kanker serviks pada 2013 yaitu sebesar 0,5% atau diperkirakan sebanyak 61.682 penderita. Kemoterapi merupakan pilihan yang paling banyak digunakan untuk pengobatan kanker, namun belum terbilang efektif karena dilaporkan memiliki efek samping yang serius (Dipiro *et al.*, 2017). Maka dari itu, untuk mengatasi efek samping dan mahalnya kemoterapi perlu dikembangkan obat antikanker yang berasal dari bahan alam seperti tanaman yang diharapkan lebih poten dan aman (Priya *et al.*, 2015).

Lengkuas (*Alpinia galanga* (L.) Willd.) merupakan tanaman yang berpotensi untuk dikembangkan sebagai obat antikanker. Tanaman ini diketahui mengandung senyawa mayor seperti asetoksikavikol asetat (ACA) dan hidroksikavikol asetat (HCA) (Samarghandian *et al.*, 2014). Penelitian oleh Asri and Winarko (2016) menyebutkan bahwa senyawa 1'-asetoksikavikol asetat (ACA) yang terkandung dalam rimpang lengkuas memiliki kemampuan dalam menghambat pertumbuhan sel kanker melalui mekanisme induksi apoptosis dan pengurangan aktivitas proliferasi sel. Penelitian yang dilakukan oleh Hidayati (2019) menyatakan bahwa fraksi etil asetat rimpang lengkuas yang diperoleh dari Pasar Boyolali memiliki aktivitas sitotoksik pada sel T47D dengan nilai IC_{50} sebesar 52,17 $\mu\text{g/mL}$ dan kandungan senyawa ACA sebesar 222 $\mu\text{g/mL}$.

Selain lengkuas, tanaman lain seperti bawang dayak, manggis, mahoni, dan jahe juga dilaporkan memiliki aktivitas antikanker. Penelitian oleh Fitri *et al.*, (2014) menyatakan bahwa senyawa naftokuinon yang terkandung dalam umbi bawang dayak (*Eleutherine bulbosa* (Mill.) Urb.) diketahui memiliki aktivitas sitotoksik terhadap sel T47D dengan nilai IC_{50} sebesar 265,02 $\mu\text{g/mL}$ untuk ekstrak n-heksana, 147,24 $\mu\text{g/mL}$ untuk ekstrak etil asetat, dan 3782,29 $\mu\text{g/mL}$ untuk ekstrak etanol. Ekstrak etanol kulit manggis (*Garcinia mangostana* (L.)) diketahui memiliki aktivitas sitotoksik yang sangat kuat terhadap sel T47D dengan nilai IC_{50} sebesar 2,07 $\mu\text{g/mL}$ (Rivanti *et al.*, 2012). Hasil penelitian Setiani (2009) menyatakan bahwa fraksi etil asetat biji mahoni (*Swietenia mahagoni* (L.) Jacq.) berpotensi dalam menghambat pertumbuhan sel T47D dengan nilai IC_{50} sebesar 49,12 $\mu\text{g/mL}$. Kemudian penelitian yang dilakukan oleh Betty (2011) menyatakan bahwa ekstrak etanol rimpang jahe (*Zingiber officinale* Roscoe.) bertanggung jawab dalam menghambat pertumbuhan sel T47D dengan nilai IC_{50} sebesar 36,85 $\mu\text{g/mL}$.

Pendekatan baru terapi kanker saat ini sudah banyak dilakukan dengan pemberian kombinasi terapi. Kombinasi terapi adalah salah satu strategi dalam mengombinasikan dua atau lebih senyawa yang bertujuan untuk meningkatkan efektivitas pengobatan dan meminimalkan efek samping. Jika suatu kombinasi menghasilkan efek yang lebih kuat dibandingkan dengan senyawa tunggal, maka

disebut dengan efek sinergisme. Namun, jika efeknya lebih lemah dari yang diharapkan, maka disebut dengan efek antagonis. Selanjutnya ketika efeknya sama dengan yang diharapkan, maka disebut dengan efek aditif (Boik *et al.*, 2009).

Beberapa penelitian mengenai sinergisme pada pengobatan kanker telah dilakukan menggunakan cisplatin dan bromelain terhadap viabilitas sel kanker MDA-MB231. Hasil penelitian menunjukkan bahwa kombinasi cisplatin dengan bromelain menunjukkan efek sinergis yang kuat yang menghasilkan penurunan signifikan dibandingkan dengan cisplatin atau bromelain tunggal (Zaim *et al.*, 2016). Penelitian lain tentang sinergisme juga telah dilakukan dengan mengombinasikan awar-awar, jahe, dan cisplatin terhadap sel T47D. Hasil menunjukkan efek sinergis dengan nilai *Combination Index* <1 , sehingga memiliki potensi untuk meningkatkan sensitivitas cisplatin terhadap sel T47D (Nisa *et al.*, 2017). Sementara penelitian yang dilakukan oleh Soriani *et al.*, (2014) menyatakan bahwa kombinasi penggunaan daun *Strobilanthes crispus* dan dosis rendah tamoxifen berpotensi mengurangi efek samping atau toksisitas obat.

Melihat potensi dari tanaman yang memiliki aktivitas antikanker, maka perlu dilakukan penelitian lebih lanjut untuk menguji kombinasi rimpang lengkuas dengan empat tanaman (umbi bawang dayak, kulit manggis, biji mahoni, dan rimpang jahe) pada sel T47D. Harapannya kombinasi empat tanaman tersebut dapat menghasilkan efek sinergisme dengan rimpang lengkuas sehingga dapat dijadikan alternatif pengobatan kanker payudara dengan hasil yang lebih baik serta efek samping yang minimal.

2. METODE

2.1. Alat dan Bahan

2.1.1. Alat yang digunakan

Alat-alat gelas (Pyrex), bejana maserasi, mikropipet (Socorex), *ependorf*, tabung konikal steril (Nunc), *cell counter*, neraca analitik (Ohaus, Precisa), almari pengering (Autonics), vakum Buchner, *rotary evaporator* (Heidolph), *Cytotoxic Safety Cabinet* (Isocide), inkubator CO₂ (Binder), almari asam, *96-well plates* (Iwaki), *haemocytometer* (Assistent), *vortex* (Thermolyne), *low vacuum* (GEA Medical), *ELISA reader* (Elx 800 BioTech), *inverted microscope* (Olympus CKX41), dan Optilab (Miconos).

2.1.2. Bahan yang digunakan

Bahan utama yang digunakan dalam penelitian ini adalah rimpang lengkuas, umbi bawang dayak, kulit manggis, biji mahoni, dan rimpang jahe. Umbi bawang dayak diperoleh dari daerah Pontianak, Kalimantan Barat. Sementara rimpang lengkuas diperoleh dari Pasar Mangu Boyolali dan tanaman

lainnya seperti kulit manggis, biji mahoni, dan rimpang jahe diperoleh dari Toko Akar Sari daerah Solo dalam bentuk simplisia. Bahan untuk ekstraksi dan fraksinasi yaitu metanol, akuades, dan etil asetat. Bahan untuk uji sitotoksik adalah sel T47D, media penumbuh RPMI (*Rosewell Park Memorial Institute*), PBS (*Phosphat Buffer Saline*), doksorubisin, FBS (*Fetal Bovine Serum*), penisilin-streptomisin, *fungizone amphotericin*, tripsin-EDTA, larutan MTT (3-(4,5-dimethylthiazol-2-yl, 2,5-diphenyl tetrazolium bromide), SDS (*Sodium Dodecyl Sulphate*) 10% dalam HCl 0,01 N, DMSO (*Dimethyl Sulfoxide*), *blue tips*, *yellow tips*, *white tips*, dan aluminium foil.

2.2. Jalannya Penelitian

2.2.1. Ekstraksi dan Fraksinasi

Sebanyak 100 gram serbuk kering simplisia dimaserasi menggunakan metanol dengan perbandingan simplisia:solven (1:10) dan didiamkan selama 3 x 24 jam sambil dilakukan pengadukan. Kemudian dilakukan penyaringan dengan vakum Buchner sampai diperoleh filtrat yang bebas ampas. Filtrat kemudian dipekatkan menggunakan *rotary evaporator* (suhu 64,7 °C) dan dilanjutkan dengan penguapan di almari asam selama 1-2 hari.

Ekstrak kental metanol yang diperoleh kemudian dipartisi menggunakan etil asetat dan akuades (1:1). Bagian lapisan atas (partisi etil asetat) diambil dan diuapkan kembali menggunakan *rotary evaporator* (suhu 77,1 °C) hingga diperoleh fraksi kental.

2.2.2 Pembuatan Larutan Uji dan Kontrol

Larutan uji dibuat dengan melarutkan 10 mg masing-masing fraksi ke dalam 100 µL DMSO dan 900 µL media RPMI, sehingga diperoleh larutan stok 10.000 µg/mL. Selanjutnya dari larutan stok dibuat pengenceran dengan 5 seri konsentrasi yaitu 25; 50; 100; 200; dan 400 µg/mL. Pembuatan larutan untuk uji tunggal dilakukan dengan mengambil sebanyak 40 µL dari larutan stok 10.000 µg/mL dan dijadikan konsentrasi 400 µg/mL dengan ditambah 960 µL media RPMI, kemudian dilakukan pengenceran bertingkat untuk mendapatkan konsentrasi 200, 100, 50, dan 25 µg/mL. Untuk uji kombinasi dilakukan dengan mencampurkan 20 µL fraksi rimpang lengkuas dan 20 µL fraksi lain menjadi konsentrasi 400 µg/mL, lalu dilakukan pengenceran bertingkat seperti uji tunggal.

Doksorubisin yang berkonsentrasi 2 mg/mL digunakan sebagai kontrol positif, dibuat 5 seri konsentrasi yaitu 6,25; 12,5; 25; 50; dan 100 µg/mL. Kontrol pelarut dibuat dengan mencampurkan 4 µL DMSO dan 996 µL media RPMI.

2.2.3. Uji Aktivitas Sitotoksik

Sebanyak 100 μ L suspensi sel T47D dimasukkan ke dalam *96-well plate* dan disisakan 3 sumuran untuk kontrol media. Sel kemudian diinkubasi selama 48 jam menggunakan inkubator CO₂ 5% pada suhu 37 °C. Media pada masing-masing sumuran dibuang dan sel diberi perlakuan fraksi uji dengan berbagai konsentrasi (25, 50, 100, 200, dan 400 μ g/mL), kemudian diinkubasi selama 24 jam. Media dibuang, lalu ditambahkan 100 μ L larutan MTT dan diinkubasi selama 2 jam. Kondisi sel diamati di bawah mikroskop. Jika kristal formazan telah terbentuk, reaksi dihentikan dengan penambahan *reagen stopper* yang berisi 100 μ L SDS 10% dalam 0,01 N HCl. *Plate* kemudian diinkubasi pada suhu kamar selama satu malam dalam suasana gelap.

Absorbansi dibaca menggunakan *ELISA reader* pada panjang gelombang 550 nm. Perhitungan % sel hidup dilakukan berdasarkan data absorbansi sel, kemudian dihitung IC₅₀ dengan membuat kurva log konsentrasi versus % sel hidup. Semakin tinggi konsentrasi larutan uji, maka semakin rendah persentase sel hidup yang terjadi.

2.2.4. Analisis Data

Perhitungan % sel hidup dilakukan berdasarkan data absorbansi sel. Jika absorbansi kontrol pelarut sama dengan kontrol sel maka presentase sel hidup dihitung dengan rumus berikut :

$$\% \text{ Sel hidup} = \frac{\text{Absorbansi perlakuan} - \text{Absorbansi kontrol media}}{\text{Absorbansi kontrol sel} - \text{Absorbansi kontrol media}} \times 100\%$$

Jika absorbansi kontrol pelarut lebih rendah dari absorbansi kontrol sel maka presentase sel hidup dihitung dengan rumus berikut :

$$\% \text{ Sel hidup} = \frac{\text{Absorbansi perlakuan} - \text{Absorbansi kontrol media}}{\text{Absorbansi kontrol pelarut} - \text{Absorbansi kontrol media}} \times 100\%$$

Keterangan:

Absorbansi perlakuan : Berisi sel + media kultur + fraksi uji

Absorbansi kontrol media : Berisi media kultur saja

Absorbansi kontrol sel : Berisi sel + media kultur

Absorbansi kontrol pelarut : Berisi sel + media kultur + DMSO

Nilai IC₅₀ dihitung dengan membuat persamaan regresi linear $Y = BX + A$, antara log konsentrasi (x) versus % sel hidup (y). Nilai IC₅₀ dihitung dengan cara mensubstitusi nilai 50 pada Y sehingga diperoleh nilai X dan nilai IC₅₀ merupakan antilog dari nilai X. Kemudian dibuat kurva hubungan log konsentrasi versus % sel hidup. Semakin tinggi konsentrasi larutan uji, semakin rendah persentase sel hidup yang terjadi.

3. HASIL DAN PEMBAHASAN

3.1. Ekstraksi dan Fraksinasi

Simplisia diekstraksi menggunakan metode maserasi dengan pelarut metanol. Keuntungan menggunakan metode maserasi selain metodenya yang sederhana juga tidak banyak gangguan fisis (Saifudin, 2014). Menurut Sayuti (2017) senyawa-senyawa yang bersifat polar maupun nonpolar akan mudah tertarik oleh metanol karena metanol diketahui mengandung gugus polar (-OH) dan nonpolar (-CH₃) dalam strukturnya. Senyawa yang dapat larut dalam metanol diantaranya adalah saponin, tanin, gula, asam amino, antosianin, terpenoid, lakton, dan polifenol (Gupta *et al.*, 2012).

Tabel 1. Hasil penimbangan, ekstraksi, dan fraksinasi ekstrak metanol dan fraksi etil asetat tanaman

Tanaman	Simplisia	Berat Ekstrak	Rendemen	Berat Fraksi	Rendemen
	Serbuk (g)	Metanol (g)	Ekstrak (%)	Etil Asetat (g)	Fraksi (%)
Lengkuas	300,08	42,04	14,01	12,60	4,20
Bawang Dayak	100,03	10,50	10,50	0,47	0,47
Manggis	100,09	13,09	13,08	4,51	4,51
Mahoni	100,04	10,20	10,20	2,69	2,69
Jahe	100,04	13,85	13,84	3,04	3,04

Penelitian oleh Samarghandian *et al.*, (2014) mengungkapkan bahwa tanaman laos (*Alpinia galanga* (L.) Willd.) mengandung senyawa mayor golongan fenilpropanoid seperti asetoksikavikol asetat (ACA) dan hidroksikavikol asetat (HCA). Senyawa yang bersifat semipolar ini sulit larut dalam pelarut nonpolar seperti heksana tetapi larut dengan baik dalam pelarut kloroform, metanol dan DMSO (TCI, 2018). Menurut Fitri *et al.*, (2014), umbi bawang dayak mengandung senyawa aktif naftokuinon dan turunannya seperti elecanacine, eleutherine, eleutherol, dan eleuthernone. Senyawa naftokuinon termasuk golongan kuinon yang diketahui mudah menguap dan mudah larut dalam metanol, etanol, dan air panas (Chemical Book, 2016). Ekstrak kulit manggis diketahui mengandung senyawa aktif yaitu ksanton yang merupakan golongan senyawa polifenol (Li *et al.*, 2013). Penelitian oleh Walker (2007) menunjukkan bahwa senyawa ksanton yang terdapat dalam kulit manggis tidak dapat larut dalam air, namun dapat larut dalam pelarut lain, mulai dari rentang polaritas metanol hingga heksana.

Menurut Naveen *et al.*, (2014), fitokonstituen utama yang terdapat dalam ekstrak metanol dan air dari biji mahoni adalah tanin, alkaloid, saponin, dan terpenoid. Sementara dalam ekstrak rimpang jahe terdapat kandungan senyawa seperti flavonoid, asam organik, alkaloid, dan terpenoid

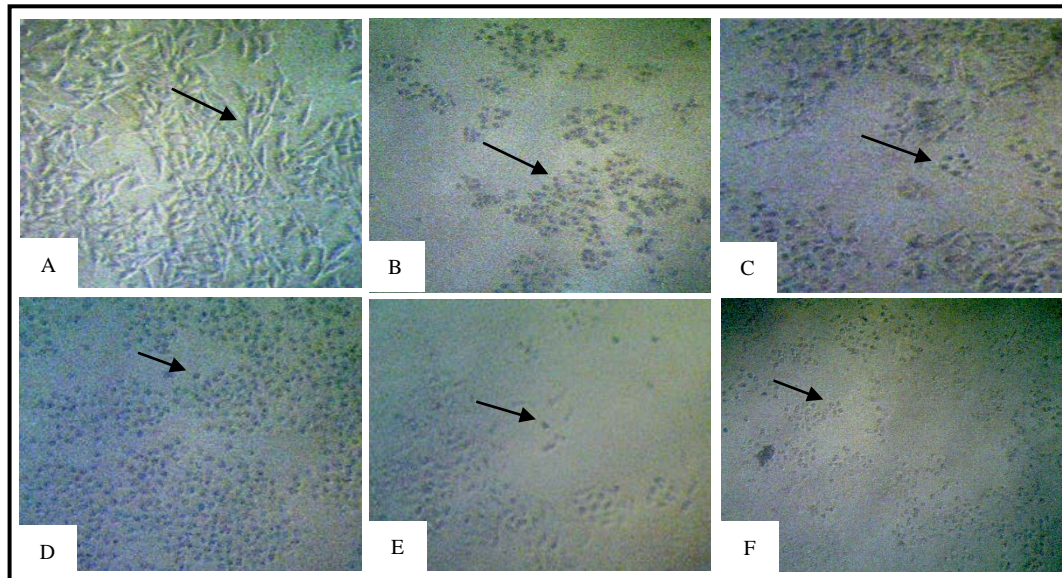
(Utami dan Desty, 2013). Saponin merupakan glikosida dari sapogenin sehingga dikelompokkan ke dalam senyawa yang bersifat polar, sementara terpenoid yang tersusun atas rantai panjang hidrokarbon menyebabkan senyawa ini bersifat nonpolar. Senyawa terpenoid juga diketahui dapat terikat dengan gugus gula sehingga dapat larut dalam pelarut semipolar dan polar seperti metanol (Astarina *et al.*, 2013).

Ekstrak metanol yang diperoleh masih terbilang kasar dan kandungannya sangat kompleks (Saifudin, 2014), sehingga perlu dilakukan fraksinasi cair-cair dengan tujuan untuk memisahkan kandungan senyawa yang terdapat dalam *crude extract* sampel berdasarkan tingkat kepolarannya (Hayu *et al.*, 2015). Pelarut etil asetat dipilih bertujuan untuk menarik senyawa-senyawa semipolar yang berada pada ekstrak metanol karena sifat pelarut etil asetat adalah semipolar sehingga senyawa yang memiliki afinitas sama dengan etil asetat akan mudah tertarik (Romadanu *et al.*, 2014).

3.2. Uji Sitotoksik

Dasar dari uji sitotoksik adalah kemampuan sel untuk bertahan hidup ketika diberikan senyawa yang toksik. Aktivitas sitotoksik suatu senyawa dapat diamati menggunakan metode MTT ((3-(4,5-Dimethylthiazol-2-yl)-2,5-Diphenyltetrazolium Bromide). Metode MTT merupakan *gold standar method* dalam uji sitotoksik yang sudah dikembangkan sejak 1980 untuk menentukan viabilitas sel (Tonder *et al.*, 2015). Prinsip metode ini yaitu terjadinya reduksi garam kuning tetrazolium MTT oleh sistem reduktase membentuk kristal formazan berwarna ungu. Reaksi ini terjadi dalam rantai respirasi di mitokondria pada sel hidup (Brescia and Peter, 2009). Pemberian larutan SDS 10% dalam HCl 0,01 N berfungsi sebagai agen *stopper* (bersifat detergenik) untuk melarutkan kristal formazan yang sulit larut dalam media kultur dan melisiskan membran sel. Larutan HCl berfungsi mengubah warna fenol merah menjadi kuning sehingga tidak mengganggu pembacaan absorbansi (Riss *et al.*, 2016).

Perbedaan morfologi sel T47D sebelum dan sesudah perlakuan diamati dengan mikroskop (Gambar 1). Terlihat morfologi sel T47D sebelum diberi perlakuan berbentuk epitel memanjang (lonjong) dan bergerombol. Sementara sel mati ditandai dengan morfologi sel berbentuk bulat tidak beraturan dengan inti menghitam.

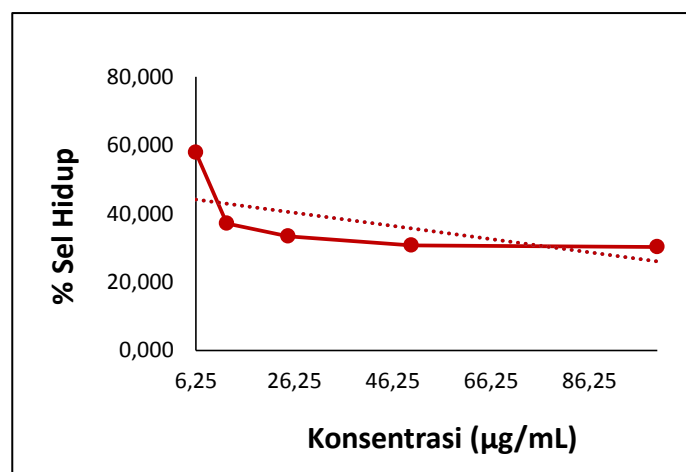


Gambar 1. Pengamatan mikroskopis morfologi sel T47D dengan perbesaran 100x.

Keterangan: Morfologi sel T47D sebelum diberi perlakuan fraksi etil asetat tanaman (A) Sel T47D setelah diberi perlakuan fraksi etil asetat lengkuas 50 µg/mL (B) Sel T47D setelah diberi perlakuan fraksi etil asetat bawang dayak 100 µg/mL (C) Sel T47D setelah diberi perlakuan fraksi etil asetat manggis 50 µg/mL (D) Sel T47D setelah diberi perlakuan fraksi etil asetat mahoni 100 µg/mL (E) Sel T47D setelah diberi perlakuan fraksi etil asetat jahe 50 µg/mL (F)

Menurut Dai *et al.*, (2017) media dasar penumbuh sel T47D adalah media *Rosewell Park Memorial Institute* (RPMI). Pembuatan media kultur lengkap dilakukan dengan mencampurkan FBS, NaHCO_3 , penisilin streptomisin, dan *fungizone amphotericin*. FBS yang mengandung hormon dan faktor pertumbuhan berfungsi untuk melindungi sel dari gangguan mekanik ketika pemanenan dan pencampuran sel, menetralkan racun, serta sebagai nutrisi sel. NaHCO_3 sebagai penyangga (*buffer*) sel, penisilin streptomisin sebagai antibiotik dan *fungizone amphotericin* sebagai antijamur (Arora, 2013).

Sel T47D bersifat sensitif terhadap doksorubisin (Shao-hsuan *et al.*, 2018), sehingga doksorubisin digunakan sebagai kontrol positif. Fungsi kontrol positif adalah sebagai pembandingan terhadap senyawa uji apakah bisa berefek sama dengan obat antikanker yang digunakan sebagai kontrol positif. Doksorubisin merupakan antibiotik antrasiklin yang berasal dari *Streptomyces peucetius* var *caesius*. Antibiotik ini memiliki spektrum luas atau beragam sehingga digunakan sebagai agen kemoterapi berbagai jenis kanker seperti kanker payudara, kanker lambung, dan leukemia akut. Mekanisme kerja doksorubisin yaitu dengan menghambat replikasi nukleotida, fungsi DNA dan RNA polimerase, serta melibatkan penghambatan topoisomerase II (Yoneda and Cross, 2010).



Gambar 2. Pengaruh perlakuan doksorubisin terhadap sel T47D

Terjadi penurunan % sel hidup yang terlihat pada Gambar 2 seiring dengan peningkatan konsentrasi. Hal ini menunjukkan *dose dependent response* yang artinya terjadi penurunan persentase sel hidup dengan peningkatan konsentrasi (Nunzio *et al.*, 2017). Hasil penelitian menunjukkan bahwa nilai IC_{50} doksorubisin sebesar 6,35 µg/mL. Penelitian sebelumnya menyatakan bahwa doksorubisin memiliki aktivitas sitotoksik pada sel T47D dengan nilai IC_{50} sebesar 15 nM atau 0,008 µg/mL (Setiawati *et al.*, 2011). Ini artinya bahwa doksorubisin sebagai kontrol positif memiliki aktivitas sitotoksik terhadap sel T47D.

Kontrol pelarut yang digunakan pada uji sitotoksik yaitu DMSO (*Dimethyl Sulfoxide*). Jamalzedah *et al.*, (2016) mengungkapkan bahwa aktivitas sitotoksik dari DMSO akan meningkat ketika konsentrasinya lebih dari 0,5%. Konsentrasi DMSO pada sampel konsentrasi tertinggi (400 µg/mL) yaitu sebesar 0,4%. Hasil penelitian menunjukkan % sel hidup kontrol pelarut >90%. Ini artinya DMSO tidak memiliki aktivitas sitotoksik terhadap sel T47D.

Parameter yang digunakan untuk menyatakan potensi sitotoksik adalah nilai IC_{50} (*Median Inhibitory Concentration*) yang merupakan konsentrasi penghambatan 50% populasi. Rentang IC_{50} menurut *National Cancer Institute* (NCI) and Geran *et al.*, (1972):

- | | |
|---|--|
| 1. $IC_{50} \leq 20$ µg/mL : Sangat aktif | 3. $IC_{50} 201-500$ µg/mL : Lemah |
| 2. $IC_{50} 21-200$ µg/mL : Moderat | 4. $IC_{50} > 500$ µg/mL : Tidak aktif |

Hal ini menunjukkan bahwa semakin kecil nilai IC_{50} maka aktivitas sitotoksik suatu senyawa akan semakin kuat (Srisawat *et al.*, 2013). Hasil uji sitotoksik fraksi tunggal dan kombinasi ditunjukkan pada Tabel 2 dan Tabel 3.

Tabel 2. Hasil uji sitotoksik fraksi etil asetat tunggal pada sel T47D

No	Fraksi Tunggal	Nilai IC ₅₀ (µg/mL) ± SD		Rata-rata nilai IC ₅₀ (µg/mL) ± SD	Keterangan Aktivitas Sitotoksik
		Uji Sitotoksik I	Uji Sitotoksik II		
1	Rimpang Lengkuas	78,89 ± 2,69	51,88 ± 3,69	65,38 ± 3,19	Moderat
2	Umbi Bawang Dayak	121,90 ± 3,94	197,70 ± 4,55	159,80 ± 4,25	Moderat
3	Kulit Manggis	14,13 ± 1,77	6,05 ± 1,62	10,09 ± 1,70	Sangat aktif
4	Biji Mahoni	358,92 ± 2,11	264,85 ± 4,12	311,89 ± 3,12	Lemah
5	Rimpang Jahe	89,33 ± 1,68	85,70 ± 2,91	87,52 ± 2,30	Moderat

Tabel 3. Hasil uji sitotoksik fraksi etil asetat kombinasi pada sel T47D

No	Fraksi Kombinasi	Nilai IC ₅₀ (µg/mL) ± SD		Rata-rata IC ₅₀ (µg/mL) ± SD	Keterangan Aktivitas Sitotoksik	Keterangan Aktivitas Kombinasi
		Uji Sitotoksik I	Uji Sitotoksik II			
1	Lengkuas-B. Dayak	82,75 ± 3,74	63,97 ± 5,43	73,36 ± 4,59	Moderat	Aditif
2	Lengkuas-Manggis	59,84 ± 2,43	23,88 ± 1,67	41,86 ± 2,05	Moderat	Aditif
3	Lengkuas-Mahoni	88,92 ± 2,84	54,20 ± 1,55	71,56 ± 2,20	Moderat	Aditif
4	Lengkuas-Jahe	99,77 ± 2,51	44,77 ± 1,47	72,27 ± 2,00	Moderat	Aditif

Berdasarkan hasil penelitian uji sitotoksik I dan II, fraksi tunggal etil asetat lengkuas memiliki nilai IC₅₀ rata-rata sebesar 65,38 µg/mL, sehingga dapat dinyatakan bahwa fraksi etil asetat rimpang lengkuas memiliki aktivitas sitotoksik moderat terhadap sel T47D. Penelitian sebelumnya yang dilakukan oleh Hidayati (2019) menyatakan bahwa fraksi etil asetat lengkuas yang diperoleh dari daerah yang sama yaitu Pasar Boyolali memiliki nilai IC₅₀ sebesar 52,17 µg/mL. Hal ini menunjukkan bahwa rimpang lengkuas memiliki konsistensi aktivitas sitotoksik yang moderat terhadap sel T47D.

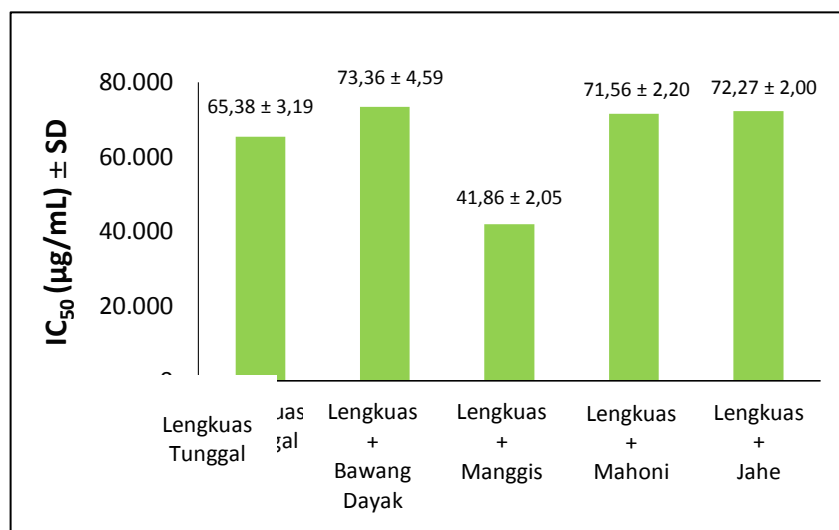
Hasil uji sitotoksik menunjukkan nilai IC₅₀ fraksi etil asetat kulit manggis sebesar 10,09 µg/mL, sehingga dikategorikan memiliki aktivitas sitotoksik yang sangat kuat terhadap sel T47D. Hasil ini sudah sesuai dengan penelitian yang dilakukan oleh Rivanti *et al.*, (2012) bahwa ekstrak etanol kulit manggis pada sel T47D menunjukkan nilai IC₅₀ sebesar 2,07 µg/mL yang juga dikategorikan memiliki aktivitas sangat kuat. Hal ini dapat disebabkan karena adanya senyawa ksanton yang diisolasi dari fraksi kulit manggis (*Garcinia mangostana* (L.)) dilaporkan dapat memperlambat proses pertumbuhan sel-sel kanker (Li *et al.*, 2013). Aktivitas sitotoksik kulit manggis yang sangat kuat ini dibuktikan dengan hasil perlakuan pada konsentrasi 50 µg/mL sudah dapat membunuh seluruh sel (Gambar 1c), ditandai dengan inti sel yang menghitam dan mengecil.

Penelitian yang dilakukan Fitri *et al.*, (2014) menyatakan bahwa senyawa naftokuinon yang terkandung dalam umbi bawang dayak (*Eleutherine bulbosa* (Mill.) Urb.) diketahui memiliki aktivitas sitotoksik terhadap sel T47D dengan nilai IC_{50} sebesar 265,02 $\mu\text{g/mL}$ untuk ekstrak n-heksana, 147,24 $\mu\text{g/mL}$ untuk ekstrak etil asetat, dan 3782,29 $\mu\text{g/mL}$ untuk ekstrak etanol. Hasil penelitian menunjukkan nilai IC_{50} untuk fraksi etil asetat bawang dayak sebesar 159,80 $\mu\text{g/mL}$. Etil asetat yang digunakan sebagai pelarut sama-sama memberikan hasil IC_{50} yang tergolong moderat terhadap sel T47D. Hal ini berarti penelitian yang dilakukan sudah sesuai dengan penelitian sebelumnya, umbi bawang dayak memiliki konsistensi aktivitas sitotoksik yang moderat terhadap sel T47D.

Hasil penelitian Betty (2011) menyatakan bahwa uji sitotoksik ekstrak etanol rimpang jahe (*Zingiber officinale* Roscoe.) dapat menghambat pertumbuhan sel T47D dengan nilai IC_{50} sebesar 36,85 $\mu\text{g/mL}$ yang dikategorikan dengan aktivitas moderat. Hasil penelitian fraksi etil asetat rimpang jahe memperoleh nilai IC_{50} sebesar 87,52 $\mu\text{g/mL}$, sehingga hasil ini sudah sesuai dengan penelitian sebelumnya yang juga memiliki aktivitas moderat terhadap sel T47D.

Sementara hasil penelitian fraksi etil asetat biji mahoni memiliki aktivitas sitotoksik yang lemah terhadap sel T47D yaitu 311,89 $\mu\text{g/mL}$. Hal ini tidak sesuai dengan penelitian Setiani (2009) yang menyatakan bahwa fraksi biji mahoni (*Swietenia mahagoni* (L.) Jacq.) berpotensi dalam menghambat pertumbuhan sel T47D dengan nilai IC_{50} sebesar 49,12 $\mu\text{g/mL}$ yang tergolong moderat. Rendahnya aktivitas sitotoksik biji mahoni terhadap sel T47D terjadi karena perbedaan perlakuan saat ekstraksi dengan penelitian sebelumnya. Penelitian Setiani (2009) melakukan dua kali ekstraksi yaitu dengan metode sokletasi dan maserasi. Tujuan sokletasi adalah untuk menghilangkan kandungan lemak pada biji mahoni dengan pelarut n-heksana agar tidak mengganggu proses analisis metabolit sekunder.

Lengkuas (*Alpinia galanga* (L.) Willd.) merupakan tanaman yang diketahui mengandung senyawa mayor seperti asetoksikavikol asetat (ACA) dan hidroksikavikol asetat (HCA) (Samarghandian *et al.*, 2014). Penelitian oleh Asri and Winarko (2016) menyebutkan bahwa senyawa 1'-asetoksikavikol asetat (ACA) yang terkandung dalam rimpang lengkuas memiliki kemampuan dalam menghambat pertumbuhan sel kanker melalui mekanisme induksi apoptosis dan pengurangan aktivitas proliferasi sel. Penelitian yang dilakukan oleh Hidayati (2019) menyatakan bahwa fraksi etil asetat rimpang lengkuas memiliki aktivitas sitotoksik pada sel T47D dengan nilai IC_{50} sebesar 52,17 $\mu\text{g/mL}$ dengan kandungan senyawa ACA sebesar 222 $\mu\text{g/mL}$. Hasil uji tunggal menunjukkan bahwa rimpang lengkuas memiliki aktivitas sitotoksik yang lebih kuat dibandingkan dengan sampel tanaman lain, kecuali kulit manggis. Meskipun rimpang lengkuas memberikan hasil berupa aktivitas sitotoksik moderat, namun perlu dilakukan uji kombinasi antara rimpang lengkuas dengan tanaman lain untuk mengetahui hasil menimbulkan efek yang sinergis, aditif, atau antagonis.

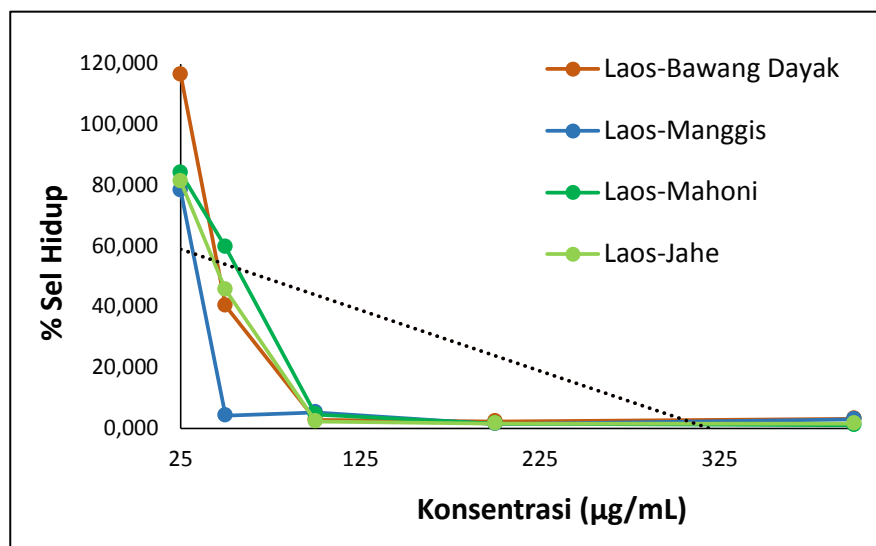


Gambar 3. Efek Sitotoksik Lengkuas Tunggal dan Kombinasi terhadap Sel T47D

Berdasarkan hasil penelitian yang diperoleh, kombinasi fraksi etil asetat rimpang lengkuas dengan kulit manggis memiliki aktivitas sitotoksik yang lebih kuat dibandingkan dengan rimpang lengkuas tunggal dan memberikan hasil yang sama-sama moderat terhadap sel T47D baik untuk uji tunggal maupun kombinasi. Menurut Boik *et al.*, (2009), ketika suatu senyawa dikombinasikan dengan senyawa lain menghasilkan efek yang sama dengan yang diharapkan, maka disebut dengan efek aditif. Hal ini menunjukkan bahwa kombinasi fraksi etil asetat kulit manggis dengan rimpang lengkuas memiliki efek aditif. Namun jika dilihat dari sisi kulit manggis, hasil kombinasi menunjukkan aktivitas sitotoksik yang lebih rendah dibandingkan dengan kulit manggis tunggal. Hal ini disebabkan karena senyawa yang terkandung dalam rimpang lengkuas memiliki kemampuan

dalam menurunkan aktivitas sitotoksik dari kulit manggis.

Selanjutnya ketika fraksi etil asetat rimpang lengkuas dikombinasikan dengan umbi bawang dayak, biji mahoni, dan rimpang jahe memberikan hasil aktivitas sitotoksik yang moderat dengan penurunan viabilitas sel T47D yang signifikan. Ini artinya hasil uji kombinasi dan tunggal sama-sama memiliki aktivitas moderat sehingga dikategorikan memiliki efek yang aditif. Namun jika dipandang dari sisi ketiga fraksi tanaman, aktivitas sitotoksiknya meningkat ketika dikombinasikan dengan rimpang lengkuas dikarenakan senyawa yang terkandung dalam rimpang lengkuas berpotensi dalam meningkatkan aktivitas dari ketiga fraksi tanaman.



Gambar 4. Pengaruh kombinasi fraksi etil asetat 4 tanaman dengan fraksi etil asetat lengkuas terhadap sel T47D

Terjadi penurunan % sel hidup yang terlihat pada Gambar 4 seiring dengan peningkatan konsentrasi. Hal ini menunjukkan *dose dependent response* yang artinya terjadi penurunan persentase sel hidup dengan peningkatan konsentrasi (Nunzio *et al.*, 2017). Sinergisme merupakan kombinasi senyawa yang menghasilkan efek yang lebih besar dari yang diharapkan dibandingkan senyawa tunggalnya (Boik *et al.*, 2009). Hasil penelitian menunjukkan bahwa ketika dikombinasikan, empat tanaman tidak menunjukkan efek sinergis terhadap fraksi etil asetat lengkuas. Uji tunggal rimpang lengkuas maupun uji kombinasi memiliki aktivitas sitotoksik yang sama yaitu moderat terhadap sel T47D, sehingga dapat disimpulkan bahwa kombinasi rimpang lengkuas dengan empat tanaman memberikan efek yang aditif terhadap satu sama lain. Dalam penelitian ini dapat dikatakan bahwa kombinasi rimpang lengkuas dengan empat tanaman dapat meningkatkan aktivitas sitotoksik pada sel T47D.

4. PENUTUP

Berdasarkan hasil penelitian dan analisis data yang diperoleh, uji tunggal rimpang lengkuas dan uji kombinasi dengan keempat tanaman memberikan aktivitas sitotoksik yang sama-sama moderat terhadap sel T47D, sehingga dapat disimpulkan bahwa kombinasi empat tanaman (umbi bawang dayak, kulit manggis, biji mahoni, dan rimpang jahe) dengan rimpang lengkuas menunjukkan efek yang aditif. Hasil kombinasi rimpang lengkuas-kulit manggis memiliki aktivitas sitotoksik yang lebih kuat (IC_{50} 41,86 μ g/mL) dibandingkan dengan rimpang lengkuas tunggal (IC_{50} 65,38 μ g/mL).

SARAN

Perlu dilakukan penelitian mengenai uji kombinasi dengan masing-masing sampel memiliki perbandingan seri konsentrasi yang berbeda agar dapat dihitung nilai CI (*Combination Index*). Nilai CI tersebut nantinya dapat digunakan untuk mengamati potensi kombinasi tanaman termasuk dalam rentang sinergis, aditif ataupun antagonis. Selain itu perlu dilakukan identifikasi senyawa dalam penelitian untuk mengetahui kandungan senyawa penanda (*chemical marker*) pada tanaman yang berperan dalam aktivitas sitotoksik terhadap sel T47D.

DAFTAR PUSTAKA

- American Cancer Society, 2015, *Cancer Fact & Figure 2015*, Terdapat di: <https://www.cancer.org> [Diakses pada 20 Maret 2018].
- Asri A. and Winarko S., 2016, Antiproliferative Activity by Ethanolic Extract of Red *Alpinia galanga* (L.) Willd in Inoculated Breast Carcinoma Cells of C3H Mice, *Journal of Advances in Medical and Pharmaceutical Sciences*, 5 (4), 1-9.
- Astarina N.W., Astuti K.W. and Warditiani N.K., 2013, Skrining Fitokimia Ekstrak Metanol Rimpang Bangle (*Zingiber purpureum* Roxb.), *Jurnal Farmasi Udayana*, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Udayana, Bali.
- Arora M., 2013, *Cell Culture Media: A Review*, Terdapat di: <https://www.labome.com/method/Cell-Culture-Media-A-Review.html> [Diakses pada 5 Maret 2019].
- Betty C.S., 2011, Aktivitas Sitotoksik Ekstrak Etanol Rimpang Jahe (*Zingiber officinale* Roscoe) dan Jahe Merah (*Zingiber officinale* Roscoe var. *rubrum*) Terhadap Sel Kanker Payudara T47D, *Skripsi*, Fakultas Farmasi Universitas Muhammadiyah Surakarta, Surakarta.
- Boik, J., Ara K., Peter B.K., Mitchell E.S. and Kevin S., 2009, Interactions of Bioactive Plant Metabolites: Synergism, Antagonism, and Additivity, *Recent Advances In Plant Biotechnology*, Terdapat di: <https://www.researchgate.net/publication/279364281> [Diakses pada 18 Maret 2019].
- Brescia P. and Peter B., 2009, Quantifying Cytotoxicity of Thiostrepton on Mesothelioma Cells using MTT Assay and the EpochTM Microplate Spectrophotometer, Terdapat di: <https://www.biotech.com> [Diakses pada 26 Maret 2019].
- Cancer Chemoprevention Research Center, 2014, *Kanker Payudara*, Terdapat di: http://ccrc.farmasi.ugm.ac.id/?page_id=885 [Diakses pada 08 Mei 2018].
- Chemical Book, 2016, *Chemical Reagents*, Terdapat di: https://www.chemicalbook.com/ProductCatalog_EN/20.htm [Diakses pada 5 Maret 2019].

- Dai X., Hongye C., Zhonghu Bai. and Jia L., 2017, Breast Cancer Cell Line Classification and Its Relevance with Breast Tumor Subtyping, *Journal of Cancer*, 8 (16), 3131-3141.
- Dipiro J.T., Robert L.T., Gary C.Y., Gary R.M., Barbara G.W. and Michael L.P., 2017, *Pharmacotherapy: A Pathophysiologic Approach, Tenth Edition*, The McGraw-Hill Companies.
- Fitri Y., Rosidah and Edi S., 2014, Effect on Inhibition Cell Cycle and Apoptosis of Sabrang Onion Extract (*Eleutherine bulbosa* (Mill.) Urb.) on Breast Cancer Cells, *International Journal of PharmTech Research*, 6 (4), 1392-1396.
- Gupta A., Madhu N. and Vijay K., 2012, Modern Extraction Methods For Preparation Of Bioactive Plant Extracts, *International Journal of Applied and Natural Sciences (IJANS)*, 1 (1), 8-26.
- Hayu L. N., Sitarina W. and Mursyidi A., 2015, Uji Sitotoksik Dan Uji Kombinasi Fraksi Etil Asetat Ekstrak Etanol Akar Pasak Bumi (*Eurycoma longifolia* Jack.) Dan Doksorubisin Pada Sel Limfosit, *Journal Tropical Pharm Chem*, 3 (2), 138-147.
- Hidayati W.N., 2019, Pengaruh Variabilitas Kandungan Metabolit Lengkuas (*Alpinia Galanga*) Dari Jawa Tengah Dan Yogyakarta Terhadap Pertumbuhan Sel Kanker Payudara T47D Secara In Vitro, *Skripsi*, Fakultas Farmasi Universitas Muhammadiyah Surakarta, Surakarta.
- Jamalzedah L., Hosein G., Reyhaneh S., Hanieh R., Jila N., Hajar H. and Mahmoud R.A., 2016, Cytotoxic Effects of Some Common Organic Solvents on MCF-7, RAW-264.7. and Human Umbilical Vein Endothelial Cells, *Avicenna J Med Biochem*, 4 (1), Terdapat di: doi [10.17795/ajmb-33453](https://doi.org/10.17795/ajmb-33453) [Diakses pada 19 Februari 2019].
- KemenKes RI, 2015, *Infodatin Pusat Data dan Informasi Kesehatan RI*, Kementerian Kesehatan RI.
- Li G., Stacey T. and Jeremy J.J., 2013, Polyphenols from The Mangosteen (*Garcinia mangostana* L.) Fruit for Breast and Prostate Cancer, *Mini View Article*, Volume 4, Article 80.
- Naveen Y.P., Rupini G. D., Ahmed F. and Urooj A., 2014, Review Pharmacological Effects And Active Phytoconstituents Of Swietenia Mahagoni: A Review, *Journal of Integrative Medicine*, 12 (2), 86–93.
- Nisa D.H., Riris I.J. and Edy M., 2017, Combination of Curcuma (*Curcuma xanthorrhiza* Roxb) Rhizome Ethanolic Extract and Awar-Awar (*Ficus septica* Burm.F) Leaves Ethanolic Extract Increases Cisplatin Cytotoxicity on T47D Breast Cancer Cells through Cell Cycle Modulation, *Indonesian Journal of Cancer Chemoprevention*, 8 (3), 120-125.
- Nunzio M.D., Veronica V., Lidia T.C., Teresa T.C., Lucia M.B., Francesca D. and Alessandra B., 2017, Is Cytotoxicity a Determinant of The Different in Vitro and In Vivo Effects of Bioactives, *BMC Complementary and Alternative Medicine*, 17, 453.
- Priya L.M., Bhanu P.K., Venkata S.K. and Josthna P., 2015, Herbal and Medicine Plants Molecules Towards Treatment of Cancer: A Mini Review, *American Journal of Ethnomedicine*, 2 (2), 136-142.
- Rivanti E., Annishfia L.R., Herwandhani P., Prisnu T. and Dyaningtyas D.P.P, 2012, Ethanolic Extract of Mangosteen (*Garcinia mangostana*) Peel Inhibits T47D and Hela Cells Line Proliferation Via Nf-kB Pathway Inhibition, *Indonesian Journal of Cancer Chemoprevention*, 3(2), 391-397.
- Romadanu., Siti H.R. and Shanti D.L., Pengujian Aktivitas Antioksidan Ekstrak Bunga Lotus (*Nelumbo nucifera*), 3 (2), Fakultas Pertanian Universitas Sriwijaya Indralaya Ogan Ilir.
- Saifudin, Azis., 2014, *Senyawa Alam Metabolit Sekunder Teori, Konsep dan Teknik Pemurnian*, Deepublish, Yogyakarta.
- Samarghandian S., Mousa-Al-Reza H., Jalil T.A. and Mohadeseh H., 2014, Antiproliferative Activity and Induction of Apoptotic by Ethanolic Extract of *Alpinia galanga* Rhizhome in Human Breast Carcinoma Cell Line, *BMC Complementary and Alternative Medicine*, 14 (1), 192.

- Sayuti M., 2017, Pengaruh Perbedaan Metode Ekstraksi, Bagian Dan Jenis Pelarut Terhadap Pengaruh Perbedaan Metode Ekstraksi, Bagian Dan Jenis Pelarut Terhadap Rendemen Dan Aktifitas Antioksidan Bambu Laut (*Isis Hippuris*), *Technology Science and Engineering Journal*, 3 (1), 166-174.
- Setiani R.F.C., 2009, Sitotoksitas Fraksi Aktif Biji Mahoni (*Swietenia mahagoni*) pada Sel Kanker Payudara T47D, *Skripsi*, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Institut Pertanian Bogor, Bogor.
- Setiawati A., Susidarti R.A. dan Meiyanto E., 2011, Peningkatan Efek Sitotoksik Doxorubicin Oleh Hesperidin Pada Sel T47D, *Bionatura-Jurnal Ilmu-ilmu Hayati dan Fisik*, 13 (2).
- Shao-hsuan W., Shey-chiang S., Bo-Huang L., Cheng-hao Lin. and Kuan-rong L., 2018, Sulbactam - Enhanced Cytotoxicity of Doxorubicin Against Breast Cancer Cells, *Cancer Cell International*, 18, 128.
- Soriani N.Y., Nik N.N.M.K. and Mohd N.N., 2014, Synergistic Anticancer Effects Of A Bioactive Subfraction Of *Strobilanthes Crispus* And Tamoxifenon MCF-7 And MDA-MB-231 Human Breast Cancer Cell Lines, *BMC Complementary and Alternative Medicine*, 14, 252.
- Srisawat T., Parinuch C., Waraporn H., Yaowapa S. and Kanyanatt K., 2013, Phytochemical Screening and Cytotoxicity of Crude Extracts of *Vatica diospyroides* Symington Type LS, *Tropical Journal of Pharmaceutical*, 12 (1), 71-76.
- Terry L Riss., Richard A.M., Andrew L.N., Sarah D., Hélène A.B., Tracy J.W. and Lisa Minor., 2016, Cell Viability Assay, *National Center for Biotechnology Information*, Terdapat di: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK144065/> [Diakses pada 21 Februari 2019].
- Tokyo Chemical Industry, 2018, Phenylpropanoids, Aromatic Polyketides, Terdapat di: https://www.tcichemicals.com/eshop/en/gb/category_index/10849/ [Diakses pada 6 Maret 2019].
- Tonder A.V., Joubert A.M. and Cromarty A.D., 2015, Limitations Of The 3-(4,5-Dimethylthiazol-2-Yl)- 2,5-Diphenyl-2H-Tetrazolium Bromide (MTT) Assay When Compared To Three Commonly Used Cell Enumeration Assays, *BMC Research Notes*, 8 (47) 1–10, Terdapat di: <https://doi.org/10.1186/s13104-015-1000-8>.
- Utami P. dan Desty E.P., 2013, *The Miracle Herbs: Daun, Umbi, Buah dan Batang Tanaman Ajaib Penakluk Aneka Penyakit*, Penerbit PT Agromedia Pustaka, Jakarta.
- Walker E.B., 2007, HPLC Analysis Of Selected Xanthenes In mangosteen Fruit, *Original Paper*, 30, 1229-1234.
- Yoneda K.Y and Cross C.E., 2010, *The Pulmonary Toxicity of Anticancer Agents*, University of California, USA, 491.
- Zaim A.M.P., Swee K.Y., Nadiah A., Kian L.L., Abdul R.O., Suraini A.A., Adam L.T.C., Tamilsevan S., Soon G.T. and Noorjahan B.A., 2016, Combination Of Cisplatin And Bromelain Exerts Synergistic Cytotoxic Effects Against Breast Cancer Cell Line MDA-MB-231, *Chinese Medicine Research*, 11 (46).